ADALGISA MULINARI

# LA VITAMINA A

*(estratto dal Vol. II dei* "Nuovi Annali" *dell' Ist. Chimico-Agr. Sper. di Gorizia)*

STAMPATO NELLA TIPOGRAFIA GIOVANNI PATERNOLLI — GORIZIA 1951

ADALGISA MULINARI

# LA VITAMINA A

(*estratto dal Vol. II dei* "Nuovi Annali" *dell'Ist. Chimico-Agr. Sper. di Gorizia*)

STAMPATO NELLA TIPOGRAFIA GIOVANNI PATERNOLLI — GORIZIA 1951

# LA VITAMINA A

## Generalità.

Il medico giapponese INOUJE, nel 1896, aveva osservato che molti bambini generalmente verso i due, tre anni erano affetti da una strana malattia agli occhi.

I sintomi erano sempre gli stessi: dapprima la cornea si opacava (xeroftalmia) in seguito si aveva rammollimento ed infine uno sfaldamento (cheratomalacia) della cornea stessa portando così alla cecità.

Questa malattia degli occhi, così diffusa nell'interno del Giappone non si manifestava invece lungo la zona litoranea. - Si notò che somministrando del fegato di pollo ai malati, questi guarivano facilmente. - Evidentemente i bambini che abitavano la costa non si ammalavano perchè nutriti spesso con fegato di pesci.

Un fenomeno analogo avvenne in Danimarca durante la prima guerra mondiale. - Questa nazione pagò un largo tributo alla xeroftalmia perchè a scopo speculativo esportava quasi tutta la sua produzione di burro agli Imperi centrali. - Vi furono pertanto vaste epidemie dipendenti sopratutto dal consumo di latte scremato e la mancanza sul mercato, di burro.

Nello stesso tempo anche i soldati tedeschi, soprattutto quelli che vivevano al fronte manifestarono disturbi visivi.

I medici chiamati a risolvere il problema, misero in rapporto tali fatti con alcune esperienze eseguite dallo STEPP [1]). - Questo studioso aveva chiamato «fattore di crescenza liposolubile» una sostanza non ancora definita che, oltre a favorire la crescita degli animali impediva il manifestarsi della xeroftalmia. - Tale sostanza era contenuta nel burro e nel latte.

Si concluse allora che, somministrando burro e latte ai soldati ammalati, questi sarebbero guariti. - Una dieta alimentare particolare confermò le ipotesi dei medici per i risultati soddisfacenti che si ebbero.

Nel 1916 MC COLLUM ed altri studiosi notarono che una determinata quantità di olio di fegato di merluzzo aveva gli stessi effetti di una corrispondente quantità di burro e, come quest'ultimo, possedeva l'azione antirachitica e antixeroftalmica.

---

(1) STEPP W.: Die Vitamine und ihre Anwendung. Stuttgart. 1941.

STEEBOCK[1]) tre anni dopo, osservò che l'attività di questa sostanza - ormai chiamata vitamina A - era legata all'intensità della colorazione gialla di alcuni vegetali. - Si iniziò da questo punto lo studio sui carotenoidi e si cercò di trovare il rapporto che c'era tra loro e la vitamina A.

VON EULER e HELLSTRÖM[2]) in collaborazione a KARRER e WALKER[3]) constatarono che i caroteni davano la stessa reazione della vitamina A se trattati con tricloruro di antimonio.

Nel 1930 MOORE[4]) scoprì che l'ingestione di carotene aveva per conseguenza un accumulo di vitamina A nel fegato. - VON EULER e HELLSTRÖM dimostrarono poi che la carotina veniva trasformata in vitamina A nel fegato degli animali stabilendo così che la carotina stessa rappresentava la provitamina A dimostrando esaurientemente la relazione fra carotina e vitamina.

Visto lo stretto legame che intercorre tra le due sostanze sentiamo la necessità di dare alcune notizie sui caroteni.

## I caroteni.

Sono delle sostanze insature ed appartengono ai polieni. - Costituiscono i pigmenti gialli e giallo-rossi dei vegetali. - Vennero chiamati caroteni da «carotina» sostanza colorante rossa della carota isolata da WACHENROEDER nel 1826.

Le successive ricerche hanno dimostrato che tali pigmenti sono assai diffusi nel regno vegetale, si trovano sempre nelle foglie verdi e nelle frutta insieme alla clorofilla ed alla xantofilla.

Negli organismi animali sono contenuti solo in piccole quantità nel grasso, nel siero del sangue e nel latte.

Il nome di carotina o carotene è conservato generalmente alla miscela di tre isomeri, quale si presenta generalmente in natura.

Nel 1931 contemporaneamente KARRER, HELFENSTEIN, WERCHER[5]) e KUHN riuscirono a separare per frazionamento dei caroteni due costituendi.

---

(1) STEENBOCH H.: «Science» 1919 N. 50 pag. 552.

(2) VON EULER — HELLSTRÖM: Svensk. Kem. Tidskr. 1928 N. 40 pag. 256; Biochem. Z. 1928 N. 203 pag. 370.

(3) VON EULER — KARRER — WALKER: Helv. ch. Acta. 1930 N. 13 pag. 1078.

(4) MOORE: Lancet. 1929 N. 23 pag. 380.

(5) KARRER — HELFENSTEIN — WERCHER: Helv. ch. Acta. 1931 N. 14 pag. 614.

— il *beta* *) carotene otticamente inattivo e poco solubile;

— l'*alfa* carotene solubilissimo e destrogiro;

Più tardi KUHN e BROCKMANN [1]) scoprirono un terzo isomero:

— il *gamma* carotene pure otticamente inattivo.

Esiste infine un quarto isomero la cui costituzione non è ancora ben nota, ma che ci interessa relativamente non essendo una provitamina A.

WILLSTÄTTER e MIEG stabilirono la formula bruta del *beta* carotene $C_{40}H_{56}$ e la caratteristica di essere molto autoossidabile. Se si tratta il *beta* carotene con idrogeno si vede che il colore della sostanza si attenua. - Una molecola di *beta* carotene fissa 22 atomi di idrogeno e si trasforma in un composto $C_{40}H_{78}$ il quale differisce dalla paraffina ($C_{40}H_{82}$) soltanto per 4 atomi di idrogeno.

ZECHMEISTER e coll. pensarono che il *beta* carotene doveva possedere per una lunga parte della sua molecola una struttura alifatica ed avere 11 doppi legami.

KARRER e HELFENSTEIN, seguendo il metodo ossidativo, arrivarono ad una più precisa conoscenza della formula di costituzione del *beta* carotene. - Per azione del permanganato potassico si ottennero 4 molecole di acido acetico, acido dimetilglutarico, dimetilsuccinico, dimetilmalonico. - Per azione dell'ozono sul carotene si ebbe formazione di acido geronico, il quale si ricava con lo stesso processo dal *beta* ionone.

In seguito ad esperienze quantitative apparve evidente che una molecola di *beta* carotene forniva circa il doppio di acido geronico di una molecola di *beta* ionone. Risultò così che il *beta* carotene conteneva due anelli iononici.

KARRER concludeva che ai due anelli del carotene si dovevano fissare quattro radicali isoprenici (vedi in seguito) per cui KARRER - da diversi risultati - proponeva per il *beta* carotene la seguente formula strutturale:

```
H3C  CH3                                                              H3C  CH3
   \ /                                                                   \ /
    C          CH3         CH3             CH3          CH3               C
   / \          |           |               |            |               / \
H2C   C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-C   CH2
 |    ||                                                                ||   |
H2C   C-CH3                                                        H3C-C   CH2
   \ /                                                                   \ /
   CH2                                                                   CH2
```

β carotene.

(1) KUHN — BROCHMANN: Ber. 1933 N. 66 pag. 407.

(*) Per difficoltà tipografiche siamo costretti a sostituire la lettera greca con la verbale dicitura.

Il *beta* carotene è otticamente inattivo. Si ricava dalle foglie del cavolfiore, da quelle degli spinaci e dal burro. - Secondo alcuni autori si trova anche nel siero del sangue. - È la vera provitamina A.

L'*alfa* carotene si differenzia dall'isomero *beta* per una diversa disposizione dei doppi legami nell'anello. - La sua molecola contiene ad un'estremità il nucleo del *beta* carotene (*beta* ionone) e nell'altra estremità il nucleo dell'*alfa* ionone, diverso dal *beta* per diversa posizione del doppio legame.

L'atomo di C dell'*alfa* ionone al quale è attaccato il resto della molecola essendo asimmetrico determina l'attività ottica $[alfa]^{20}_{D} = + 323^{0}$. Per ossidazione si ottiene acido geronico ed acido isogeronico

```
 H3C  CH3                         H3C  CH3
   \ /                               \ /
    C                                 C
   / \                               / \
H2C   COOH                        H2C   CH2
 |                                 |     |
H2C   COOH                       HOOC   CH2
   \ /                                  /
   CH2                              HOOC
```

ac. geronico                                  ac. isogeronico

il che significa che nella molecola sono sicuramente presenti l'*alfa* e il *beta* ionone.

Ne risulta che la struttura dell'*alfa* carotene secondo KARRER, MORF e WALKER è la seguente:

```
                                                                              H3C  CH3
H3C  CH3                                                                         \ /
   \ /         CH3          CH3           CH3          CH3                        C
    C           |            |             |            |                        / \
   / \                                                                                      
H2C   C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH   CH2
 |    ||                                                           |    |
H2C   C-CH3                                                   H3C-C   CH2
   \ /                                                              \ /
   CH2                                                              CH
```

*alfa* carotene

Detta sostanza si ottiene dall'olio rosso di palma.

Il *gamma* carotene ha una costituzione un po' diversa dai precedenti. Ha 12 doppi legami, una metà della sua molecola è uguale al *beta* carotene, l'altra metà è uguale al licopene; è contenuto nei frutti di Gonocarpum pyriforme.

KUHN e BROCKMANN stabilirono per il *gamma* carotene la seguente formula:

```
H3C  CH3                                                               H3C  CH3
  \ /                                                                     \ /
   C         CH3        CH3             CH3            CH3                 C
  / \        |          |               |              |                    \\
H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH                 CH
 |   ||                                                    ||               |
H2C  C-CH3                                            H3C-C                CH2
  \ /                                                      \               /
   CH2                                                      CH2
```

$\gamma$ carotene

Oltre ai tre isomeri *alfa* - *beta* - *gamma* del carotene si conoscono altre provitamine A naturali: la criptoxantina e l'echinenone. Anche alcuni derivati artificiali del carotene possono venir considerati delle provitamine A; ad esempio il diidro *beta* carotene, il diidro *alfa* carotene, l'ossido di carotene ed altri.

Tutte le provitamine A, sia naturali che artificiali hanno in comune che contengono almeno un ciclo di *beta* ionone intatto.

## Formazione dei caroteni nei tessuti.

VON EULER e KLUSSMANN [1]) trovarono che i caroteni si rinvenivano sovente dove aveva luogo un processo di assimilazione. - Possiamo ritenere che gli stessi sistemi enzimatici intervengono sia nella formazione della clorofilla che del carotene.

È facile osservare, sopratutto nelle frutta in via di maturazione, la scomparsa della clorofilla con simultanea formazione dei coloranti polienici.

## Fonti naturali.

Contenuto in mg. di carotina per 100 g. di sostanza:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Spinaci . . . . . . | 8,6 | Pomodori . . . . . | 2.- |
| Carote . . . . . . | 5,2 | Burro . . . . . . | 0,75 |
| Cavolfiore . . . . . | 5,1 | Lenticchie . . . . . | 0,2 |
| Prezzemolo . . . . | 3,- | Piselli . . . . . . | 0,1 |

(1) VON EULER — KLUSSMANN: Svensk. Kem. Tidskr. 1929 N. 44 pag. 177.

## Estrazione.

Di solito la carotina si estrae dalle carote, benchè ne contenga meno di altri vegetali.

Per estrarla, si sminuzzano le carote, si essicano a 40-50°, si macinano e si mettono in percolatore usando etere di petrolio quale solvente.

L'*alfa*, il *beta* ed il *gamma* carotene vengono separati in seguito per mezzo di cristallizzazioni frazionate.

## Unità Internazionali e fabbisogno.

1 g. di *beta* carotene = 1.670.000 U.I.

1 U.I. = 0,6 *gamma* di *beta* carotene = 1,5 Unità Schermann.

Una *Unità Schermann* corrisponde alla quantità di vitamina A che, presa giornalmente, produce una crescita media di peso settimanale di 3 g. nei ratti alimentati senza vitamina A. - Questa stessa dose porta alla guarigione delle alterazioni oculari dopo 5-8 settimane.

Il fabbisogno per gli adulti va dal 3 ai 6 mg. di *beta* carotene al giorno.

Un eccesso di *beta* carotene viene immagazzinato in alcuni organi ed in particolare nella zona corticale delle capsule surrenali, reni ecc.

Quando l'organismo è incapace di trasformare la carotina in vitamina A, il pigmento si accumula nei tessuti ed in particolare in quello delle palme delle mani o delle piante dei piedi provocando la cosiddetta xantocromia carotinoidea.

# La vitamina A.

La vitamina A è oggi conosciuta anche con il nome di Axeroftolo, Vitamina della crescenza, Vitamina antixeroftalmica. - Un tempo la si designava come Fattore liposolubile A, Biosterolo, Oftalmina.

## Costituzione chimica.

I primi saggi eseguiti con l'olio di fegato di pesci mostrarono che, per lo studio della vitamina A era necessario scegliere un materiale che la contenesse in forte concentrazione. - A tale scopo si scelse l'olio di fegato di Hippoglossus.

KARRER [1]) riuscì con diversi processi ad ottenere un estratto circa 500 volte più concentrato del prodotto originale.

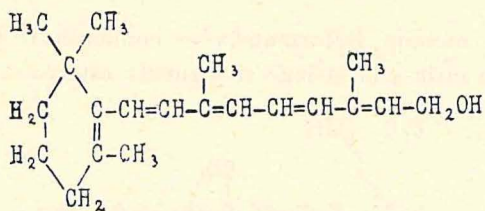
Sull'estratto purificato si iniziarono gli studi per identificare la costituzione chimica della vitamina A.

Si vide che l'estratto poteva venire esterificato, si trattava dunque di un alcool.

Per idrogenazione catalitica la vitamina A assorbe 5 $H_2$, cioè possiede nella molecola cinque legami etilenici ed ha i caratteri di un poliene del tipo carotenico (dà infatti le reazioni colorate con tricloruro di antimonio).

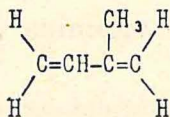
L'analisi elementare e la determinazione del peso molecolare fecero pensare ad una formula bruta $C_{20}H_{30}O$.

Tenendo conto di tutti questi fatti KARRER ed i suoi collaboratori MORF e SCHOPP [2]) assegnarono alla vitamina di crescenza la seguente formula di costituzione.

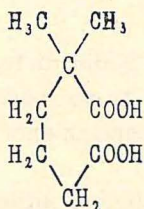
```
 H3C  CH3
   \ /
    C          CH3         CH3
   / \         |           |
H2C   C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH2OH
  |   ||
H2C   C-CH3
   \ /
    CH2
```

Vitamina di crescenza

(1) KARRER — MORF — SCHOPP: Helv. ch. Acta. 1931. N. 14 pag. 1037 e 1131.
(2) KARRER — MORF — SCHOPP: Helv. ch. Acta. 1931 N. 14 pag. 1431.

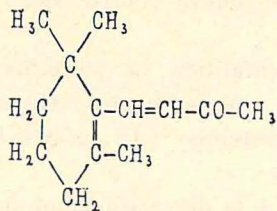
la catena laterale alifatica risulta costituita da due residui dell'isoprene.

```
H    CH3 H
 \   |  /
  C=CH-C=C
 /       \
H         H
```

Isoprene

Per ossidazione con ozono si ha formazione di acido geronico;

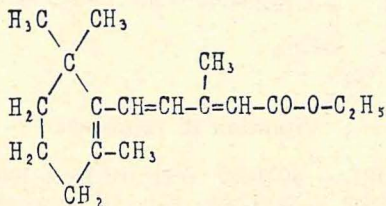
```
  H3C  CH3
     \ /
      C
     / \
  H2C   COOH
    |
  H2C   COOH
     \ /
     CH2
```

acido geronico

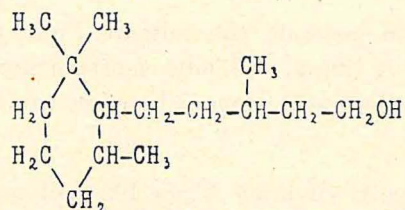
di conseguenza nella molecola della vitamina A è contenuto l'anello del *beta* ionone.

```
H3C   CH3
   \ /
    C
   / \
H2C   C-CH=CH-CO-CH3
 |    ||
H2C   C-CH3
   \ /
   CH2
```

β ionone

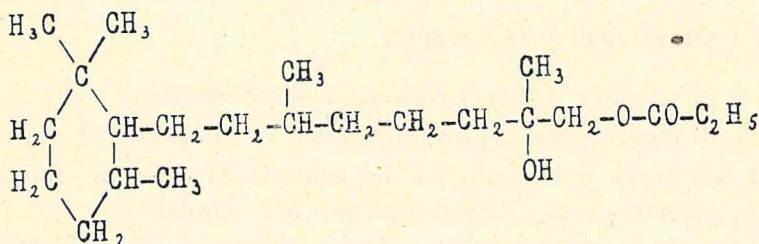
Che la struttura chimica sia veramente quella che KARRER ed i suoi collaboratori avevano assegnato, viene confermato dalla sintesi della peridrovitamina A (identica al prodotto di idrogenazione catalitica della vitamina A).

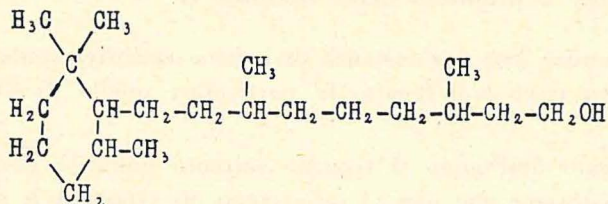
Seguendo il metodo Reformatsky si condensa il *beta* ionone con bromo acetato di etile e si ottiene il seguente estere:

```
H3C   CH3
   \ /
    C         CH3
   / \        |
H2C   C-CH=CH-C=CH-CO-O-C2H5
 |    ||
H2C   C-CH3
   \ /
   CH2
```

che per idrogenazione catalitica e successiva riduzione con alcool e sodio dà il seguente alcool saturo

```
  H3C  CH3
     \/
     C            CH3
    / \           |
 H2C   CH-CH2-CH2-CH-CH2-CH2OH
  |     |
 H2C   CH-CH3
    \ /
    CH2
```

Condensando il bromo-derivato di quest'alcool con l'etere monosodio malonico e decarbossilando successivamente si ha il metil - 5 - trimetil - cicloesil - 7 - eptanoico il cui cloro-derivato trattato con ioduro di zinco metile forma il chetone corrispondente.

Infine dalla condensazione di questo chetone con il bromoacetato di etile in presenza di zinco si ha il seguente ossi-estere:

```
  H3C  CH3
     \/
     C            CH3                CH3
    / \           |                  |
 H2C   CH-CH2-CH2-CH-CH2-CH2-CH2-C-CH2-O-CO-C2H5
  |     |                            |
 H2C   CH-CH3                        OH
    \ /
    CH2
```

Per riduzione del suo bromo-derivato si ha sostituzione dell'OH con H e l'estere così ottenuto per riduzione dà la peridrovitamina A:

```
  H3C  CH3
     \/
     C            CH3                CH3
    / \           |                  |
 H2C   CH-CH2-CH2-CH-CH2-CH2-CH2-CH-CH2-CH2OH
  |     |
 H2C   CH-CH3
    \ /
    CH2
```

Peridrovitamina A .

Il prodotto sintetico venne confrontato con la peridrovitamina A ottenuta per riduzione della vitamina A e si osservò che i due prodotti erano assolutamente identici.

### Fonti naturali.

Possiamo dire in generale che soltanto l'olio di fegato dei pesci è ricco di vitamina A libera. - Il latte contiene una quantità variabile secondo la stagione e l'alimentazione. - La carne contiene un quantitativo esiguo.

Contenuto in mg. di vitamina A per 100 g. di sostanza:

| | | | |
|---|---|---|---|
| Olio di fegato di Fletan | 1500 | Burro . . . . . . . | 2 |
| Olio di fegato di storione | 130 | Tuorlo d' uovo . . . | 2 |
| Olio di fegato di merluzzo | 22 | Anguille . . . . . . | 1,6 |
| Fegato di vitello . . . . | 6 | Latte di donna . . . | 0,2 |
| Fegato di maiale . . . . | 5 | Latte di mucca . . . | 0,15 |

### Unità internazionali e fabbisogno.

1 g. di vitamina A alcool equivale a 4.500.000 U.I.

1 g. di *beta* carotene (provitamina A) = 1.670.000 U.I.

Il fabbisogno giornaliero per un adulto è di 1 mg. di vitamina A (corrispondente a 3 mg. di provitamina - *beta* carotene).

Nella donna durante la gravidanza e l'allattamento il fabbisogno è superiore.

### Caratteristiche e proprietà della vitamina A.

La vitamina A è una sostanza di origine esclusivamente animale. - L'organo più ricco è il fegato, in particolare quello di Fletan (Hippoglossus).

Nel fegato dell'uomo si trovano soltanto quantità piccolissime. - WENDT [1]) sostiene che non vi è passaggio di vitamina A dalla madre al feto, poichè la placenta ne risulta del tutto priva.

Il fegato del neonato però è ricchissimo in contenuto di vitamina A.

È stato inoltre provato che il colostro è talvolta ben cento volte più ricco di vitamina A che il latte normale.

(1) WENDT: Klinische Woche. 1936 N. 15 pag. 222.

La vitamina A è un liquido oleoso, di color gialletto, alterabile all'aria. - Distilla senza venir decomposta a 137°-138° alla pompa a vapori di mercurio alla pressione di mm. 0,00001.

Se si sottopone il prodotto ottenuto a forte raffreddamento, si separa un corpo cristallino color giallo che costituisce la pura vitamina A alcool; p.f. 64° C.

La vitamina A, essendo un alcool, esterifica con gli acidi. - Gli esteri più noti sono: il benzoato, il *beta* naftolato, il palmitato.

È insolubile in acqua, è solubile invece nei solventi dei grassi e nei grassi stessi.

Il fattore A, riscaldato sopra i 100° perde le sue proprietà fisiologiche. - Anche la luce esercita sulla vitamina A un'azione deleteria e perciò la si deve conservare in recipienti scuri.

## Passaggio dal carotene alla vitamina A.

MOORE ha potuto dimostrare come avviene la trasformazione del carotene in vitamina A.

Tale trasformazione corrisponde semplicemente ad una scissione della molecola per idrolisi.

Osserviamo per es. il *beta* carotene.

```
H3C  CH3                        2 H2O                            H3C  CH3
   \/                                                               \/
   C        CH3          CH3      :     CH3            CH3          C
  / \        |            |       :      |              |          / \
H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-C   CH2
 |   ||                           :                                ||   |
H2C  C-CH3                        :                           H3C-C   CH2
   \/                             :                                \/
   CH2                            :                                CH2
                            β carotene
                                  :

                         H3C  CH3
                            \/
                            C        CH3          CH3
 ————→  2 molecole         / \        |            |
                         H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH2OH
                          |   ||
                         H2C  C-CH3
                            \/
                            CH2

                     - Vitamina A -
```

Dal *beta* carotene si ottengono quindi 2 molecole di vitamina A e questo, per la presenza di due gruppi *beta* iononici nella molecola del *beta* carotene.

Dall'*alfa* carotene, pure per idrolisi, si ottiene invece una sola molecola di vitamina A poichè l'*alfa* carotene possiede un solo gruppo *beta* iononico che è il vero fautore dell'azione vitaminica.

Il gruppo *alfa* iononico infatti non esercita alcuna azione biologica.

```
H3C  CH3                     2 H2O                              H3C  CH3
  \ /                                                             \ /
   C        CH3       CH3      :     CH3       CH3                 C
  / \       |         |        :     |         |                  / \
H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH÷CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH  CH2
 |   ||                        :                                  |    |
H2C  C-CH3                     :                               H3C-C  CH2
  \ /                          :                                   \\ /
  CH2                   α carotene                                  CH
                               :
1 molecola di Vitamina A.
```

Pure una sola molecola di vitamina A si ottiene dal *gamma* carotene. - La sua costituzione mostra che una metà della molecola è uguale al *beta* carotene e possiede quindi il gruppo *beta* iononico, l'altra metà invece è una licopina fisiologicamente inattiva.

```
H3C  CH3                     2 H2O                               H3C  CH3
  \ /                                                              \ /
   C        CH3       CH3      :     CH3       CH3                  C
  / \       |         |        :     |         |                     \\
H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH÷CH-CH=C-CH=CH-CH=C-CH=CH-CH          CH
 |   ||                        :                                  ||     |
H2C  C-CH3                     :                               H3C-C    CH2
  \ /                          :                                   \   /
  CH2                   γ carotene                                  CH2
                               :
- I molecola di Vitamina A -   :
```

MOORE [1]) sostiene che nel ratto vivo il carotene si trasforma in vitamina A. - La capacità del fegato di trasformare il carotene in vitamina A è diversa a seconda delle diverse specie di animali.

Facendo alcune ricerche sulla vitamina A e sul *beta* carotene, MOORE [2]) trovò che queste due sostanze erano equivalenti dal punto di vista delle dosi minime agenti sui ratti.

(1) MOORE: Biochem. J. 1929 N. 23 pag. 1927 - Lancet. 1929 pag. 499.
(2) MOORE: Biochem. J. 1933 N. 27 pag. 888.

Tale esperienza lo portò a concludere che a piccole dosi il carotene veniva trasformato quantitativamente nell'organismo.

VON EULER, KARRER e ZUBUYS [1]) invece affermarono che le dosi giornaliere minime per i ratti sono notevolmente più piccole per la vitamina A che per il *beta* carotene.

ALCOTT e MC CANN [2]) annunciarono, nel 1931, di essere riusciti ad ottenere «in vitro» la vitamina A partendo dal carotene e lavorando su fegato di ratto o estratti di questo. - In base a tali esperimenti PATIENTE e RALLI pensarono all'esistenza di un fermento «la carotenasi» presente nel fegato.

La trasformazione della provitamina in vitamina A avviene senza difficoltà nell'organismo sano. - Nell'organismo malato invece è di molto alterata o non avviene affatto.

Per insufficienza epatica e tiroidea si ha subito la xantocromia.

Anche negli organismi deboli, nei tubercolotici, per il loro ricambio nutritizio rallentato, si verifica lo stesso fenomeno.

La xantocromia si nota spesso anche nelle persone anziane; tale manifestazione è dovuta ad una diminuzione delle capacità ossidative del loro arganismo.

L'incapacità di trasformazione della provitamina in vitamina A porta a stati patologici caratteristici dell'avitaminosi.

In questi casi conviene somministrare soltanto vitamina A libera e non carotina.

## Metodo di estrazione.

Si parte per es. da 10 Kg. di fegato di tonno finemente triturati, si fanno bollire, con refrigerante a ricadere, con una soluzione di 5 Kg. di alcool etilico al 50% in acqua contenente Kg. 1.600 di idrato potassico.

Si fa bollire per 3 ore in corrente di azoto. - Dopo raffreddamento si aggiungono 4 litri di acqua e si estrae con 8 litri di etere di petrolio. - Poi l'etere si separa e lo si tratta con 500 cc. di alcool etilico al 50% per eliminare il sapone eventualmente presente.

L'etere di petrolio lavato si essica con solfato sodico secco e poi si distilla in corrente di azoto.

Si ottiene così un residuo oleoso giallo aranciato. - Lo si tratta con un litro di alcool metilico puro. - Si precipitano le colesterine raffred-

(1) VON EULER — KARRER — ZUBUYS: Helv. ch. Acta. 1933 N. 16 pag. 24.
(2) ALCOTT — MC CANN: J. Biol. Chem. 1931 N. 194 pag. 223.

dando fino a - 25° e poi si filtra per aspirazione. - Il filtrato si distilla a b.m. in corrente di azoto e quindi si aspira alla pompa per eliminare l'alcool metilico.

Rimane un residuo oleoso, colorato intensamente in rosso arancio contenente circa 220.000 U. di vitamina A e 45.000 U. di vitamina D per grammo.

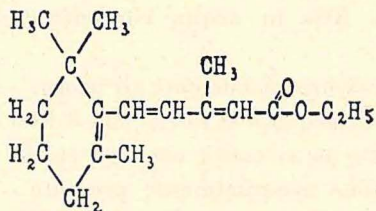
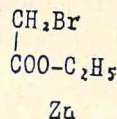
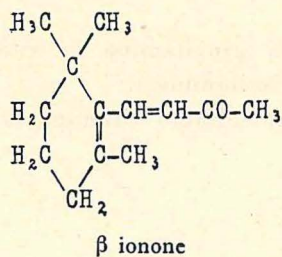
**Sintesi della vitamina A.**

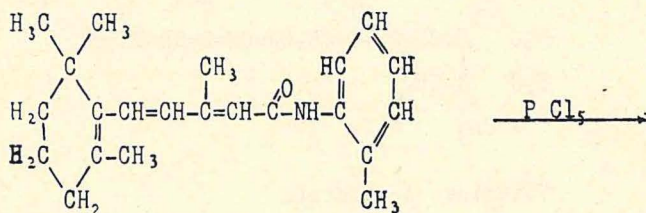
Nel 1937 KUHN riuscì a realizzare la sintesi della vitamina A partendo dal *beta* ionone attraverso l'estere dell'acido *beta* ioniliden acetico e da questo all'aldeide *beta* ioniliden acetica. - Per ottenere quest'aldeide KUHN e MORRIS [1]) usarono il metodo BRAUN [2]) passando attraverso l'orto toluide dell'acido *beta* ioniliden acetico a mezzo del reattivo di GRIGNARD.

Ed ecco i vari passaggi per la sintesi:

```
H3C  CH3
  \ /
   C
  / \
H2C  C-CH=CH-CO-CH3          CH2Br
 |   ||                       |
H2C  C-CH3                   COO-C2H5
  \ /
  CH2                          Zn
```

β ionone

```
H3C  CH3
  \ /
   C          CH3
  / \          |    O
H2C  C-CH=CH-C=CH-C-O-C2H5
 |   ||
H2C  C-CH3
  \ /
  CH2
```

β ioniliden acetato di etile

(1) KUHN — MORRIS: Ber. 1937 N. 70 pag. 853.
(2) VON BRAUN — RUDOLPH: Ber. 1934 N. 67 pag. 267 e 1735.

```
 H3C   CH3                                   CH
    \ /                                     /  \\
     C                 CH3                HC    CH
    / \                 |       //O        ||   |
 H2C   C-CH=CH-C=CH-C-NH-C        CH          P Cl5
  |    ||                           \   //   ------->
 H2C   C-CH3                          C
    \ /                               |
    CH2                              CH3
```

orto toluide dell'acido β ioniliden acetico

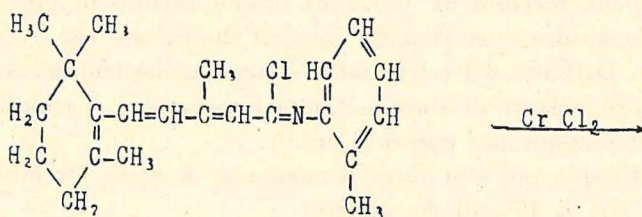
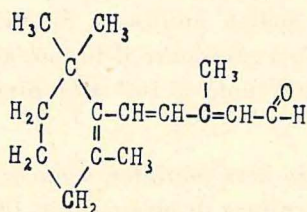
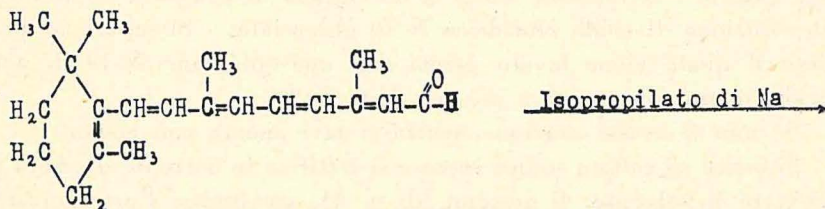
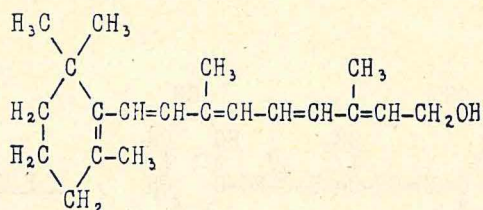
```
 H3C   CH3                                   CH
    \ /                                     /  \\
     C                 CH3     Cl       HC    CH
    / \                 |       |        ||   |
 H2C   C-CH=CH-C=CH-C=N-C        CH          Cr Cl2
  |    ||                           \   //   ------->
 H2C   C-CH3                          C
    \ /                               |
    CH2                              CH3
```

clorimide

```
 H3C   CH3
    \ /
     C                 CH3
    / \                 |       //O
 H2C   C-CH=CH-C=CH-C-H
  |    ||
 H2C   C-CH3
    \ /
    CH2
```

β ioniliden acetaldeide.

```
 H3C   CH3
    \ /
     C              CH3              CH3
    / \              |                |      //O
 H2C   C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-C-H        Isopropilato di Na
  |    ||                                                   ------->
 H2C   C-CH3
    \ /
    CH2
```

```
H3C  CH3
  \ /
   C          CH3         CH3
  / \          |           |
H2C  C-CH=CH-C=CH-CH=CH-C=CH-CH2OH
 |   ||
H2C  C-CH3
  \ /
  CH2
```

Vitamina A alcool.

**Procedimento di laboratorio.**

beta *ioniliden acetato di etile:* Si sciolgono 100 g. di *beta* ionone in una soluzione formata da 100 g di bromo acetato di etile in g. 200 di benzolo anidro e si riscalda fino all'ebollizione con refrigerante a ricadere. - Dall'alto del refrigerante si aggiungono lentamente a piccole dosi 50 g. di polvere di zinco. - Finita l'operazione si continua a mantenere l'ebollizione per ancora 3 ore.

Si raffredda poi e si versa il composto di zinco ottenuto in acqua acidulata con il 10% di ac. acetico.

Si aggiunge etere di petrolio, si agita e si lascia in riposo per alcune ore. La soluzione etere di petrolio-benzolo si separa, si lava con acqua acidulata all'1% di acido acetico e poi con acqua, infine con soluzione diluitissima di bicarbonato sodico.

Si essica su solfato sodico anidro. - Si elimina il solvente e si riscalda il residuo a 170° per eliminare il bromo acetato di etile che non ha reagito. Si rettifica nel vuoto a 162° alla pressione di 3 mm. Resa g. 120. -

*Orto toluide dell'acido* beta *ioniliden acetico:* Si prepara il reattivo GRIGNARD: g. 5,9 di tornitura di magnesio in 180 cc. di etere anidro e 35 g. di ioduro di metile. - Si lascia gocciolare a 0° una soluzione formata da g. 25,5 di ortotoluidina purissima in 50 cc. di etere anidro. - A questa soluzione, tolta dal ghiaccio, si aggiunge goccia a goccia una soluzione fomata da g. 32 di *beta* ioniliden acetato di etile in 50 cc. di etere anidro. - A reazione finita si decompone il prodotto ottenuto con una soluzione di acido cloridrico N/10 ghiacciata. - Si separa lo strato etereo il quale viene lavato prima con una soluzione N/10 di acido cloridrico, poi con acqua e poi con soda N/20.

Se non si avesse reazione neutra si lavi ancora con acqua.

Si essica su solfato sodico secco e si rettifica in corrente di azoto per eliminare il solvente. Il residuo, di g. 41, costituisce l'orto toluidide pronta per le ulteriori trasformazioni senza bisogno di venire rettificata.

beta *ioniliden acetaldeide:* Si versano lentamente 21 g. di orto toluidide in una soluzione formata da g. 13,6 di pentacloruro di fosforo in 50 cc. di benzolo puro alla temperatura di 0° allo scopo di ottenere la clorimide intermedia.

Si elimina il benzolo per distillazione ed il residuo si scioglie in 30 cc. di etere purissimo. - A questa soluzione si fa gocciolare in ambiente di azoto una sospensione di cloruro cromoso in etere recentemente preparata e formata da g. 55 di acetato di cromo cristallino, g 19 di acido cloridrico e 250 cc. di etere.

La reazione è finita dopo un'ora e mezza di agitazione. - Si versa quindi in acqua, si separa l'estratto etereo che viene seccato su solfato sodico e quindi in ambiente di azoto si elimina il solvente. - Il residuo è dato da un'olio bruno che costituisce l'aldeide grezza.

Tale residuo viene trattato con 100 cc. di una soluzione acquosa al 10% di acido ossalico e lo si distilla in corrente di vapore in atmosfera di azoto o anidride carbonica.

Il distillato viene estratto con etere e si essica questa soluzione eterea su solfato sodico in ambiente di azoto e il residuo si rettifica a 110° sotto una pressione di mm. 0,0001. - Si ottengono così g. 4 di un liquido mobile leggermente giallo che costituisce l'aldeide *beta* ioniliden acetica.

*Vitamina A.* - Ad una soluzione formata da g. 3,9 di aldeide *beta* ioniliden acetica, g. 0,05 di piperidina, g. 0,05 di acido acetico glaciale e cc. 0,05 di alcool assoluto, si lascia scendere goccia a goccia nello spazio di un'ora agitando in corrente di azoto g. 1,5 di aldeide *beta* metil crotonica. - Il liquido colorato in bruno scuro viene lasciato per una notte a temperatura ambiente.

Si estrae con etere, si tratta con poco acido cloridrico diluito, per salificare la piperidina che viene eliminata per separazione; la soluzione eterea si lava dapprima con soluzione diluita di carbonato sodico; poi con acqua. - Si secca su solfato sodico.

Si svapora l'etere in corrente di azoto e si scioglie il residuo in 75 cc. di alcool isopropilico, si porta a 110° in atmosfera di azoto e si aggiungono g. 2 di isopropilato di sodio portando la temperatura fino a 120°.

In tal modo l'alcool isopropilico distilla.

Si torna a versare lo stesso alcool isopropilico distillato, ripetendo l'operazione 3-4 volte finchè dopo distillazione quest'alcool non dia più la reazione dell'acetone se trattato con p. nitro fenil idrazina in soluzione acetica.

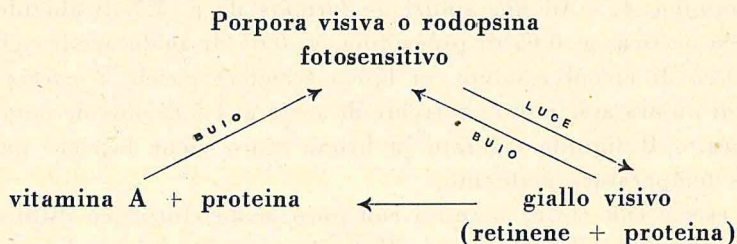
Il residuo è ripreso a freddo con poco etere di petrolio a p.e. = 30° e quindi agitato con pochi cc. di acido fosforico 2 N. - Si estrae 2 o 3 volte con etere di petrolio, si riuniscono gli estratti eterei che si lavano almeno 3 volte con acqua distillata. - Si essicano su solfato sodico. Dopo eliminazione del solvente si ha un residuo di circa g. 3 che, purificato per adsorbimento cromatografico dà un valore in vitamina A del 7,5% circa.

## Le vitamine $A_1$ e $A_2$

Le ricerche di WALD [1]) e HECHT [2]) hanno dimostrato le relazioni esistenti fra vitamina A e porpora visiva o rodopsina. Quest'ultima è una proteina coniugata il cui gruppo prostetico, chiamato *retinene* appartiene al gruppo dei caroteni.

La vista è dovuta all'attività di piccolissimi elementi che si trovano nella retina. Tali elementi contengono la porpora visiva.

Per azione della luce sulla porpora visiva questa si dissocia nei suoi costituenti formando il *giallo visivo* che è una mescolanza di proteina e retinene. Il retinene si trasforma poi in vitamina A.

Nell'oscurità questo processo viene accompagnato da una parziale sintesi della rodopsina.

La rigenerazione della porpora visiva procede secondo l'aumento della sensibilità alla luce e con velocità tanto maggiore quanto maggiore è il contenuto della retina in vitamina A. Se questa manca o è scarsa, la sintesi avviene con molta lentezza o non avviene affatto. Si ha allora il fenomeno della cecità notturna e crepuscolare chiamato emeralopia.

WALD ha potuto dimostrare che nella retina dei mammiferi, delle rane e dei pesci di acqua salata è contenuta la *rodopsina*. - Essa costituisce il pigmento colorato rosa che può venire trasformato in vitamina A.

(1) WALD: Vitamines and Hormones. 1943 Vol. I pag. 195.
(2) HECHT: Ann. Rev. Biochem. 1942 Vol. II pag. 467.

Nei pesci di acqua dolce al posto della rodopsina si trova un'altro pigmento: la *porfiropsina*.

Anche la porfiropsina si trasforma in vitamina A nello stesso modo della rodopsina.

Osservando le loro bande di assorbimento è stato notato che sono diverse.

Da questa constatazione si è potuto confermare che ci sono due tipi di vitamina A.

Si chiamò vitamina $A_1$ quella che si ottiene per trasformazione della rodopsina. - L'altra si denominò vitamina $A_2$.

Rodopsina ⟶ $Retinene_1$ ⟶ Vitamina $A_1$

Porfiropsina ⟶ $Retinene_2$ ⟶ Vitamina $A_2$

VON EULER nell'esame biologico della vitamina A ha potuto dimostrare che l'azione della vitamina $A_2$ sulla crescita è 10 volte minore di quella della vitamina A comune.

**Azione biologica della vitamina A.**

Le prime osservazioni di HOPPKINS e STEPP sulla deficienza vitaminica fecero notare una diminuzione e persino l'arresto, totale della crescita, seguita da progressivo dimagramento ed infine dalla morte di giovani ratti. - Questa fu scongiurata quando i giovani ratti ricevettero al momento opportuno un estratto di rosso d'uovo o burro contenenti la vitamina liposolubile.

Per la sua azione sulla crescita la vitamina A venne perciò spesso denominata «vitamina della crescenza».

La sindrome carenziale è facilmente dimostrabile nell'animale giovane in via di accrescimento, nell'adulto invece si denota un progressivo dimagramento, anche qui seguito dalla morte.

Il primo fenomeno conosciuto come conseguenza della carenza di vitamina A fu la xeroftalmia (se si lascia in disparte l'arresto o il ritardo della crescita sia nei fanciulli che nei giovani ratti).

BLOCH [1]) e BLEYAD nel 1924 avevano già cominciato a studiare i rapporti esistenti tra la xeroftalmia e regime alimentare.

Nel 1928 OSBORNE e MENDEL, osservando la tendenza alle infiammazioni oculari di animali sottoposti ad un regime alimentare privo di vitamina A ne descrissero minutamente le alterazioni:

(1) BLOCH: Ill. of Dairy Science. (U. S. A.) 1924 N. 7 pag. 1.

La prima manifestazione è data da una leggera secrezione al bordo libero delle palpebre che si gonfiano. - Dopo alcuni giorni compaiono delle crosticine sul bordo stesso e secchezza (xerosi) seguita da ulcerazione della congiuntiva e della cornea.

MORI ha trovato che il primo disturbo si ha a carico delle ghiandole lacrimali, con diminuzione della secrezione a cui segue la xerosi.

Il secondo stadio dell'affezione oculare viene chiamato cheratomalacia. - La cornea già disidratata si rammollisce ed in seguito si sfalda.

Sembra però che queste tappe non siano che una conseguenza indiretta dell'avitaminosi A, nel senso che dipendono dall'impianto successivo di batteri.

SAMPAOLESI nel 1927 ha isolato dal seno congiuntivale di ratti in regime carenzato un bacillo pseudodifterico il quale si trova pure nei ratti sottoposti a dieta normale, ma con frequenza molto minore e senza che si produca alcuna lesione oculare. - In condizioni normali la virulenza del bacillo è limitatissima. - Si può pensare quindi che nello stato carenziale si abbia un aumento numerico del germe accompagnato anche da un aumento della sua virulenza.

Il rapporto tra i disturbi oculari dell'uomo e mancanza di vitamina A è ammesso ormai da diversi anni. - Sin dal 1904 MORI descriveva nei bambini giapponesi sotto il nome di «likan» una malattia caratterizzata da xerosi congiuntivale, secchezza delle palpebre e dei capelli e dimagramento prevenibile con la somministrazione di fegato di pollo oppure olio di fegato di pesci.

Nel 1918 BLOCH specificò che i disturbi oculari dei bimbi danesi erano dipendenti da carenza di fattore A. Con l'introduzione di burro nell'alimentazione ordinaria la xeroftalmia infantile diminuì fortemente nel 1919.

WIELAND nel 1934 descrisse la cheratomalacia in un lattante di 14 giorni perchè nutrito con latte di donna scremato. - Il caso migliorò rapidamente con la somministrazione di olio di fegato di merluzzo.

Un'altra interessante manifestazione dovuta all'avitaminosi A è data dall'emeralopia [1]) o cecità notturna. - Tale sintomo venne messo in evidenza per la prima volta da FREDERICIA e HOLM [2]) nel 1925 in

(1) HESS — KIRBKBY: Amer. J. Publ. Healt. 1933 N. 23 pag. 935; concernente l'apparizione simultanea di oftalmia e cecità notturna.

(2) FREDERICIA — HOLM: Amer. J. Physiol. 1925 N. 73 pag. 63.

seguito ai loro studi sulla rigenerazione del pigmento rosso della retina. - Essi sostennero che l'emeralopia era dovuta a scarsissimo adattamento della retina all'oscurità per cui si aveva cecità già alla luce crepuscolare.

Quando i ratti (in dieta carenzata) da un ambiente fortemente illuminato passano ad uno in penombra, la rigenerazione della porpora visiva avviene assai lentamente.

Sappiamo che, secondo WALD [1]) la porpora visiva e gli altri pigmenti dell'occhio sono elaborati dalla vitamina A.

Come abbiamo già detto la porpora visiva è un composto proteico, costituito da una proteina semplice e un gruppo prostetico dato dalla vitamina A. - La porpora, per azione della luce viene trasformata in giallo visivo che di nuovo si scompone per dare una proteina e vitamina A che verrà utilizzata per rigenerare la porpora visiva.

Si spiega così la deficente formazione di porpora visiva in caso di avitaminosi A e la conseguente emeralopia.

Determinando il grado di emeralopia FRIDERICHSEN ed EDMUND [2]) hanno trovato il modo di indicare e precisare l'avitaminosi anche se leggera nei bimbi.

Casi di emeralopia in forma endemica furono constatati tra i prigionieri austriaci in Russia durante la prima guerra mondiale e tra i contadini russi nell'epoca dei digiuni che precedevano le feste religiose durante le quali erano proibiti cibi animali e la dieta - di conseguenza - era rigidamente vegetariana.

Altra funzione della vitamina A è quella di conservare l'integrità sia anatomica che funzionale dei tessuti epiteliali.

L'azione protettiva sull'epitelio per azione dei carotinoidi potrebbe avere una certa relazione con il fatto che un'alimentazione ricca di carote impartisce ai cavalli un pelo lucido.

È anche noto che, nei ratti sottoposti ad una dieta carenzata di vitamina A, l'ultimo periodo di vita è accompagnato da una nutrizione difettosa della pelle e da arruffamento dei peli.

Anche nell'uomo si notano dei fenomeni a carico della pelle nelle forme di avitaminosi A.

LOEWENTHAE riferisce di aver notato un segno visibile di deficienza del fattore A tra i prigionieri dell'Uganda. - Essi avevano una pelle secca con eruzioni papulose in più parti del corpo le quali avevano origine da alterazioni del follicolo pilosebaceo. - Questa forma di dermatosi compariva prima ancora che si notasse la xeroftalmia nei prigionieri stessi.

(1) WALD: Nature. 1934 N. 134 pag. 905 - 1935 N. 136 pag. 882.
(2) FRIDERICHSEN: Hospitalstid. 1936 N. 79 pag. 689.

MORI nel 1922 ha notato - in casi di avitaminosi A - una cheratinizzazione degli epiteli della laringe e della trachea. - L'apparato respiratorio diviene spesso sede di processi infiammatori acuti.

AROUS e VAN DER RIYST hanno descritto pure modificazioni del tipo ulcerativo a carico della mucosa dello stomaco.

Tale fatto è stato confermato nel 1933 da MANVILLE il quale nei ratti - in condizioni di avitaminosi A - ha trovato nella maggior parte dei casi lesioni alla mucosa gastrica che fecero pensare ad una vera e propria ulcera. - Il pH del succo gastrico che normalmente nei ratti è 3 - 4, nel caso di dieta carenzata scendeva a 2,5 - 3.

Per analogia a quanto si osserva negli animali da esperimento si deve pensare che anche nell'uomo il fattore A ha importanza nell'eziologia di alcune malattie infettive (bronco-polmoniti, otiti, ecc.).

A Bombay ad es. le infezioni dell'apparato respiratorio sono la causa di morte più comune nelle classi sociali dove abbondano i casi di xeroftalmia.

A questo punto possiamo aggiungere una manifestazione assai importante dell'avitaminosi A a carico della funzione riproduttiva.

Nella femmina del ratto si ha arresto dell'ovulazione e comparsa di uno stato permanente di estro o kolpocheratosi caratterizzato dalla presenza di cellule cheratinizzate nella vagina.

Nel maschio si nota invece una diminuzione accentuata della spermatogenesi.

In base a questa manifestazione HOLVEG e DOHRN [1]) hanno indicato il modo di misurare la carenza vitaminica A.

Lo stato di estro permanente viene guarito dopo ingestione di vitamina A o caroteni.

KRAMER e KINGSBURG [2]) nel 1924 attirarono l'attenzione sul rapporto esistente tra carenza vitaminica A e lo sviluppo di malattie infettive. - Durante l'inverno e la primavera del 1931-32 in un Istituto di ricerche si verificò un'epidemia di pasteurellosa (Bacterium Haemoseptioum). - Nei 770 ratti in osservazione durante il periodo infettivo si ammalarono soltanto quelli che avevano ricevuto un'alimentazione priva di caroteni e di vitamina A [3]). - Uno studio sierologico su questo materiale da esperimento dimostrò che l'effetto protettivo del carotene non si esplicava per una maggior formazione di anticorpi.

---

(1) HOLVEG — DOHRN: Z. f. ges. Exp. Med. 1930 N. 71 pag. 792.
(2) KRAMER — KINGSBURG: Brit. J. Exp. Path. 1924 N. 5 pag. 300.
(3) VON EULER: Bull. Soc. Chim. Biol. 1932 N. 14 pag. 833.

A che cosa sia dovuta la maggiore suscettibilità alle affezioni degli animali carenzati non si sa ancora con precisione.

Alcuni autori la fanno dipendere da un'attenuazione dei mezzi di difesa umorali.

La diminuita resistenza alle invasioni batteriche propria dell'avitaminosi A, è stata dimostrata da alcune esperienze di SEIDMON e ARNOLD (1932) i quali, avendo fatto ingerire a ratti bianchi carenzati una quantità considerevole di bacilli tifici ed avendoli ricercati 30', 60' dopo negli organi interni hanno visto che i bacilli erano molto più numerosi che negli stessi organi di ratti normali, concludendo per un'abnorme permeabilità intestinale ai batteri nel corso di carenza del fattore A, dovuta ad alterazione dei tessuti epiteliali.

Sintomi di incoordinazione motoria furono notati nel 1914 da HART e MC COLLUM a carico di alcuni maiali tenuti a speciali diete. - Tali sintomi scomparivano somministrando burro agli animali.

Una dieta di cereali causò nei cani degenerazione delle fibre nervose del midollo (MELLANBY) prevenibile mediante olio di fegato di mammiferi, burro e caroteni. - Si suppose allora che la deficienza di vitamina A nei cereali aveva provocato la sindrome e le alterazioni del sistema nervoso centrale.

ZIMMERMANN nel 1933 trovò nei ratti sottoposti a dieta priva di fattore A lesioni a carico del sistema nervoso consistenti in una degenerazione delle guaine mieliniche del nervo sciatico e del plesso brachiale.

Nell'uomo, sugli eventuali rapporti tra lesioni del sistema nervoso e avitaminosi A non si può dire ancora una parola definitiva.

Un'altra manifestazione frequente dell'avitaminosi A è la formazione di calcoli nella vescica e vescichetta biliare. - ROFFO nel 1929 notò in alcuni topi calcolosi delle vie urinarie. - VON LEERSUM nel 1932 descriveva la produzione di concrementi nei reni di ratti carenzati. -

La calcolosi sembra stia in rapporto con le modificazioni degenerative degli epiteli.

Non si può ancora estendere con sicurezza all'uomo il concetto che le varie forme di calcolosi abbiano relazione con una deficenza di fattore A nella diete.

Il rapporto tra vitamina A e lo sviluppo di tumori ha richiamato l'attenzione di molti ricercatori perchè numerose osservazioni avevano dimostrato a carico delle mucose degli animali carenzati in fattore A, la presenza di fatti proliferativi che sono stati considerati come lesioni precancerose. - HARDE perciò nel 1932 consigliò la somministra-

zione abbondante di vitamina A a scopo profilattico e curativo contro i neoplasmi in genere.

È nota anche l'azione cicatrizzante della vitamina A. Infatti bruciature e piaghe trattate con questo farmaco guariscono facilmente.

È utilissimo somministrare vitamina A anche dopo l'interventi chirurgici poichè l'anestesia generale provoca diminuzione della riserva epatica.

## Antagonismo tra vitamina A e tiroxina.

La scuola di VON EULER ha dimostrato che la vitamina A si comporta come antagonista della tiroxina per quanto riguarda l'accrescimento corporeo degli animali.

Se l'azione della tiroxina viene saggiata con l'usuale metodo della metamorfosi dei girini, si constata che, detta azione può venir ostacolata mediante aggiunta del fattore A. - CHEVALIER sostiene che se la tiroxina aumenta il metabolismo basale, la vitamina A ha azione opposta.

Nelle prime ricerche su tale antagonismo si propose di saggiare sistematicamente l'azione dei caroteni sullo sviluppo del morbo di BASEDOW.

I risultati di questi studi vennero riportati dallo STEPP [1]) in una sua monografia.

Si consiglia quindi una terapia vitaminica A nella forme ipertiroidee.

## Ipervitaminosi.

Dosi notevoli di vitamina A possono provocare gli stessi fenomeni che si riscontrano nei casi di carenza.

Secondo DAVIES e MOORE (1934) un eccesso di fattore A somministrato ai ratti giovani provoca dimagramento, caduta del pelo e talvolta lesioni polmonari ed ossee.

Alcuni autori sostengono che l'ipervitaminosi avviene solo se l'organismo ha già uno squilibrio alimentare per carenza di vitamina B.

Nel caso di grande accumulo nell'organismo di carotina si ha la xantocromia carotinoidea.

(1) STEPP KÜHNAN — SCHROEDER : « Die Vitamine » Stutigart Enke. 1936.

**Reazioni chimiche e determinazione quantitativa.**

La migliore reazione per il riconoscimento della vitamina A è quella di CARR e PRICE.

Si opera con tricloruro di antimonio e cloroformio, in presenza di vitamina A e provitamina si ha colorazione azzurra.

Il metodo per ottenere la determinazione quantitativa è il seguente:

1 cc. di soluzione cloroformica contenente il 10% dell'olio da titolare si addiziona di 2 cc. di soluzione cloroformica di tricloruro di antimonio e si misura l'intensità di colorazione ottenuta confrontandola con una soluzione campione. - Ci si può servire anche di un comune colorimetro. - La lettura si fa dopo 30 secondi.

Il valore si esprime in quantità Loviboud, in unità bleu (CARR e PRICE) o in unità C.L.O. (Cod - Liver - Oil).

1 unità C.L.O. = 10 unità bleu = 50 unità Loviboud = 208 U.I. = 125 *gamma* di vitamina A.

La seconda conferenza Internazionale per la preparazione standard delle vitamine ha riconosciuto quale metodo di determinazione quantitativa quello spettrofotometrico basato sull'assorbimento dell'ultravioletto dei concentrati di vitamina A. - La banda di assorbimento 328 m. *u* è riconosciuta come caratteristica.

ARCANGELI [1]) sostiene che questo metodo può portare degli errori.

I caroteni in presenza di vitamina A vengono determinati per

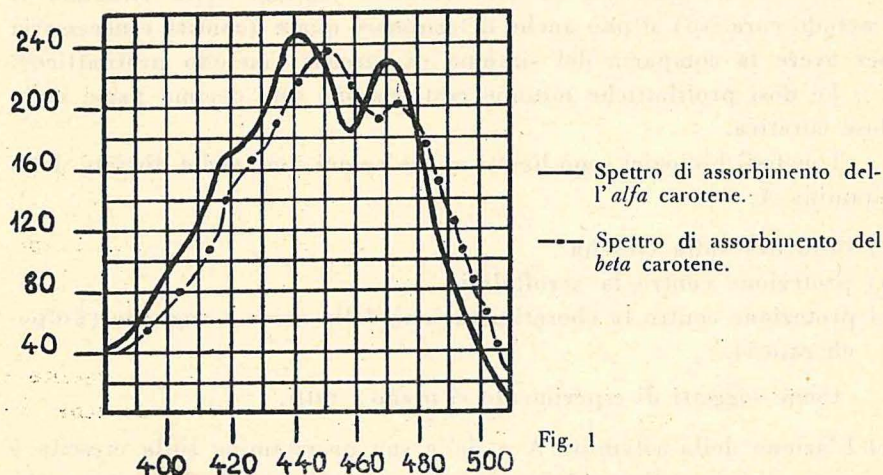
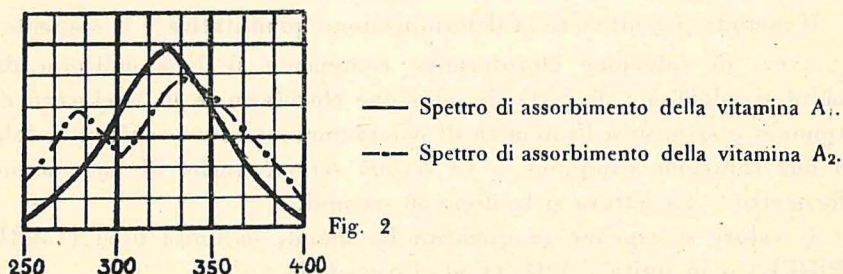



Fig. 1

(1) ARCANGELI: Rendic. Ist. Sup. Sanità. 1943 Vol. IV parte III pag. 448.

assorbimento cromatografico (Fig. 1) o per via colorimetrica, col metodo spettroscopico applicato dopo che è avvenuta la reazione di CARR.

Vitamina $A_1$ e $A_2$ si distinguono usando un metodo qualitativo e cioè per la differente fluorescenza che hanno alla luce ultravioletta. - La vitamina $A_1$ dà fluorescenza verde, la vitamina $A_2$ rossastra (Fig. 2).

Fig. 2

Un altro metodo di dosaggio quantitativo dei prodotti vitaminici A o provitamine A è dato dalla determinazione della dose giornaliera minima che produce un effetto fisiologico determinato.

Il metodo diagnostico per via biologica dà dei risultati molto esatti, sembra pertanto che oggi sia ancora il più preciso.

Il metodo biologico si basa sul fatto ben noto che le manifestazioni di deficienza - risultanti da un apporto insufficiente di vitamina A - possono dare delle variazioni per addizione agli alimenti d'una quantità minima di vitamina A.

Invece che misurare la dose curativa minima della vitamina A (metodo curativo) si può anche determinare quale quantità è necessaria per avere la comparsa del sintomo di carenza (metodo profilattico).

Le dosi profilattiche minime costituiscono una decima parte della dose curativa.

I metodi biologici sono basati su tre azioni biologiche distinte della vitamina A:

*a)* influenza sulla crescita
*b)* protezione contro la xeroftalmia
*c)* protezione contro la cheratinizzazione della mucosa vaginale (kolpocheratosi).

Come soggetti di esperimento si usano i ratti.

*a)* L'azione della vitamina A e delle sue provitamine sulla crescita è stata molto studiata ed in particolare quella del *beta* carotene che venne scelto come campione.

L'unità di vitamina A è stata fissata dalla Conferenza del 1934 pari a mg. 0,006 di *beta* carotene.

Una preparazione dunque, contiene una unità internazionale quando nelle stesse condizioni produce il medesimo effetto Biologico di 0,6 *gamma* di *beta* carotene.

Non è molto semplice poter determinare la quantità giornaliera minimum che favorisce la crescita dei ratti: bisogna prima determinare e definire la crescita normale.

Noi consideriamo come dose quotidiana attiva minimum 2,5 *gamma* di *beta* carotene.

Per l'*alfa* carotene la dose è doppia.

*b)* Metodo di protezione contro la xeroftalmia.

L'azione della vitamina A e sua provitamina a riguardo della xeroftalmia servì occasionalmente a caratterizzarne l'attività.

In generale questo metodo di misura è poco raccomandabile perchè l'apparizione della xeroftalmia è sottomessa a condizioni individuali ed i sintomi della malattia degli occhi non scompaiono che quando si è già verificato un aumento della crescita.

*c)* Metodo della kolopocheratosi.

Questo metodo, sviluppato da HOHLWEG e DOHRN [1]) è basato sulla comparsa dell'estro permanente o kolpocheratosi in seguito e deficenza di vitamina A.

Tale metodo ha il vantaggio di permettere la determinazione dell'attività vitaminica A con l'aiuto di una sola dose.

Tuttavia alcuni autori asseriscono che quest'ultimo sia un metodo poco preciso.

Per dosare la vitamina A col sistema della kolpocheratosi si segue uno speciale procedimento. - Dei ratti castrati ricevono un'alimentazione priva di vitamina A. - Dopo tre settimane circa, si fa il primo saggio della mucosa vaginale. - A poco a poco si vede che la quantità di muco diminuisce ed infine compare l'estro propriamente detto, senza proestro preliminare.

Secondo COWARD il tempo necessario alla scomparsa dell'estro serve di misura per l'attività della dose.

(1) HOHLWEG — DOHRN: Z. ges. Exper. Med. 1930 N. 71 pag. 762.

# INDICE

*) Tesi di laurea discussa a Padova col chiarissimo sig. prof. PITTONI e qui pubblicata a titolo di incoraggiamento.

Il lettore che desiderasse approfondire le sue conoscenze può consultare l'opera di E. PACE sulle Vitamine edita dalla Casa Hoepli nel 1949.